

**Das Verhalten von Gesamt-Amino-Stickstoff
und 21 freien Plasmaamino-säuren
bei der experimentellen Leberschädigung
durch Tetrachlorkohlenstoff**

Fritz Windsheimer

1961

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

**Das Verhalten von Gesamt-Amino-Stickstoff
und 21 freien Plasmaamino-säuren
bei der experimentellen Leberschädigung
durch Tetrachlorkohlenstoff**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Fritz Windsheimer
aus Stallwang

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. H. ZICKGRAF
Mitberichterstatter: Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL
Dekan: Professor Dr. Dr. H. EYER

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juni 1961



I N H A L T

	Seite
I. Einführung	5
II. Material und Methodik	6
III. Ergebnisse:	
A. Histologisches Bild	7
B. Freie Plasmaamino-säuren der normalen Ratte	11
C. Freie Plasmaamino-säuren nach der Vergiftung mit Tetrachlor- kohlenstoff	13
D. Freie Harnamino-säuren vor und nach der Vergiftung mit CCl_4	18
IV. Diskussion	18
V. Zusammenfassung	23
VI. Literaturverzeichnis	24



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555618_0057

EINFÜHRUNG

Kürzlich haben wir über die quantitative Bestimmung von 21 freien Aminosäuren im Nüchternplasma gesunder Versuchspersonen berichtet (60). Überraschenderweise schwankte der aus den ziemlich vollständig erfassten Einzelaminosäuren errechnete Gesamt-Aminosäure-Stickstoff sowohl innerhalb der untersuchten Personengruppe als auch bei ein- und derselben Versuchsperson weit weniger als sämtliche einzelnen Aminosäuren. Der Gesamt-Aminosäure-Stickstoff schien also einer strengeren Regulation zu unterliegen als seine Komponenten. Hohe Konzentrationen bestimmter Aminosäuren waren jeweils durch niedrige Konzentrationen anderer Aminosäuren kompensiert.

Daraus ergab sich die Frage, wie weit pathologische Stoffwechselveränderungen diese Regulation aus dem Gleichgewicht bringen. Ein geeignetes Studienobjekt schien die experimentelle Leberschädigung, da die Leber im Aminosäurestoffwechsel eine zentrale Stellung einnimmt (5, 6, 75). Bei Lebererkrankungen wurden Veränderungen der freien Plasmaaminosäuren wiederholt beschrieben (4, 11, 18, 55, 57, 83, 105, 124, 129, 132, 138). Auch wir haben bei Patienten unserer Klinik mit Leberzirrhosen und Hepatitiden die Plasmaaminosäuren untersucht (64). Die Unterschiede zum Normalen waren jedoch meist ziemlich gering und gingen mit dem klinischen Bild häufig nicht parallel. Systematische Aussagen über das Verhältnis der einzelnen Aminosäuren zueinander oder zum Gesamt-Amino-Stickstoff konnten davon nicht erwartet werden. Einmal ergab die verwendete Methodik keine genauen, quantitativen Werte, zum anderen bedeutete die Uneinheitlichkeit des Patientenmaterials eine grosse Schwierigkeit.

Im Tierversuch können durch hepatotoxische Substanzen wie Allylformiat, Äthionin, Chloroform, Phaloidin, Phosphor, Tetrachlorkohlenstoff oder Thioacetamid experimentelle Leberschäden erzeugt werden. Diese Vergiftungen ergeben freilich ein anderes Bild als die Lebererkrankungen des Menschen. Die Zusammenschau der bei mehreren solchen Schädigungen durch Gifte mit verschiedenem Angriffspunkt erhobenen Befunde erlaubt jedoch vielleicht eine Aussage darüber, was prinzipiell bei definierten Leberschäden für Abweichungen im Aminosäurestoffwechsel zu erwarten sind.

Im Rahmen dieser Untersuchungen haben wir uns zuerst der Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff zugewandt. Durch einmalige Applikation hoher Dosen lassen sich massive Nekrosen erzeugen (13, 28, 32, 43, 52, 53, 71, 72, 74, 114, 127). Wird das erste akute Stadium überlebt, dann kann es päter zur subakuten Leberdystrophie kommen, die nach einigen Wochen zum Tode führt. Bei geringerer Schädigung werden die Nekrosen soweit durch Regenerate ersetzt, dass die Struktur und Funktion der Leber wieder hergestellt wird (13, 52). Chronische Verabreichung kleinerer Dosen bewirkt zirrhoseähnliche Veränderungen (13, 52), die nach Absetzung der Giftzufuhr ebenfalls wieder teilweise zurückgehen können. Uns interessierte zunächst die akute Schädigung der Leber, da wir hier am ehesten schwere Veränderungen der Plasmaaminosäuren erwarteten.

MATERIAL UND METHODIK

Insgesamt wurden über 100 Whistar Albino-Ratten im Gewicht von 160 - 240 gr in den Versuch genommen. Die freien Blutaminosäuren wurden bei 87 Tieren quantitativ bestimmt und die dazugehörigen Lebern histologisch aufgearbeitet. Von diesen wurden 44 für Versuche zur Standardisierung der Methodik und zur Ermittlung einer geeigneten CCl_4 -Dosis verwendet. Sie bleiben bei der weiteren Auswertung unberücksichtigt. Von den verbleibenden 43 Tieren dienten 14 als normale Kontrollen, 29 wurden einheitlich mit 0,55 ml analysenreinem, unverdünnten Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Dazu erhielten die Tiere einen leichten Ätherrausch. 6 Stunden vor der Verabreichung des Giftes liessen wir die Tiere hungern, die ersten Stunden danach gaben wir nur Aqua ad libidum. Von den vergifteten Tieren wurden 7 Ratten nach 24 Stunden, 6 nach 48 Stunden, 5 nach 14 Tagen und 4 nach 23 Tagen getötet. 7 Ratten sind nach 22 Tagen spontan gestorben. Bei diesen Tieren konnten die Plasmaaminosäuren nicht untersucht werden.

Einige Monate später wurde eine zweite Rattenserie von 15 Tieren auf die gleiche Weise vergiftet. Diese wurden nach 23 Tagen getötet und ihr Serum zur Ausführung der üblichen klinischen Laborreaktionen (Rest-N, Harnsäure, Bilirubin, Weltmannband, Takata-, Cadmium-, Thymolreaktionen, Eiweisselektrophorese) verwendet und auch bei diesen die Lebern histologisch untersucht. Obwohl diese aus einem anderen Tierstamm kommenden Tiere die gleiche Giftdosis erhalten hatten, war das klinische Bild viel leichter. Kein Tier starb spontan. Nach 23 Tagen wurde lediglich eine gewisse feintropfige Verfettung beobachtet. Im übrigen war der histologische Befund der Leber nur noch wenig verändert. Auch die Serumlabilitätsreaktionen, die Bilirubinwerte und die Elektrophoresekurve wichen bei diesen Tieren nicht signifikant von Normalratten ab. Der Grund für das unterschiedliche Verhalten dieser Rattenserie ist uns nicht ganz klar. Möglicherweise liegt er zum Teil in jahreszeitlich bedingten Fütterungsunterschieden. Jedenfalls ist die Serie mit den anderen nicht vergleichbar und muss daher unberücksichtigt bleiben.

Das Blut sämtlicher Tiere wurde aus der in Äthernarkose freigelegten Vena Cava caudalis mittels einer mit Thrombocid benetzten Glasspritze entnommen. Von einer Ratte erhielten wir 6 - 8 ml. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie früher beschrieben (60).

Zur quantitativen Bestimmung der Einzelaminosäuren diente ein papierchromatographisches Verfahren, das 21 Plasmaaminosäuren mit geringer Fehlergrenze getrennt zu bestimmen gestattet. Wir hielten uns in allen methodischen Einzelheiten an unsere früheren Angaben (59, 60).

Bei 13 Tieren wurden vor und unmittelbar nach der Vergiftung auch die freien Harnaminosäuren untersucht. Wir bestimmten den Gesamt- α -Amino-Stickstoff im Warburg-Apparat mit Hilfe eines neuen, anderenorts ausführlich geschilderten, manometrischen Verfahrens (63). Die Einzelaminosäuren des Harns wurden quali-

tativ beziehungsweise semiquantitativ auf zweidimensionalen Hochspannungs-Elektropherogrammen bestimmt. Methodische Einzelheiten über dies Vorgehen wurden ebenfalls bereits in früheren Arbeiten angegeben (64-66).

Die Lebern sämtlicher Tiere, auch der spontan gestorbenen, wurden unmittelbar post mortem entnommen und in wässrigem, 6 %igen Formalin fixiert. 7.5 μ -Gefrierschnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin nach Romeis (102) und mit Sudan-Rot nach Daddi (16) gefärbt (Gegenfärbung mit Hämatoxylin). Dadurch konnte in jedem einzelnen Fall das Ausmass der tatsächlich vorliegenden Leberschädigung objektiviert werden.

ERGEBNISSE

A. Histologisches Bild der akuten Tetrachlorkohlenstoffvergiftung

Das histologische Bild der normalen Rattenleber setzen wir als bekannt voraus.

Die charakteristischen Leberschäden nach hohen Tetrachlorkohlenstoffdosen sind bei allen vergifteten Ratten zunächst ziemlich gleichförmig. Individuelle Unterschiede beziehen sich dann hauptsächlich auf den Grad, weniger auf die Art und die Dauer der Veränderungen (13). Später ist dies nicht mehr der Fall. Die Tiere der ersten Serie, bei denen die Plasmaamino-säuren untersucht wurden, waren so schwer geschädigt, dass die meisten nach 20 Tagen zu Grunde gingen. Die Tiere einer zweiten hier nicht berücksichtigten Versuchsserie, bei denen lediglich Serum-bilirubin, Rest-N und verschiedene Serumlabilitätsreaktionen untersucht wurden, erholten sich so weitgehend, dass schliesslich auch histologisch nur noch geringe Veränderungen nachweisbar waren.

Nach 24 Stunden (Abb. 1) erschien die Feinstruktur der Leber stark aufgelockert und hyperämisch, die Leberzellbalken dissoziiert. Um die Zentralvene fanden sich nekrotische Leberzellen mit pyknotischen Kernen. Vorwiegend in der Intermediärzone war eine starke mittel- bis grosstropfige Verfettung erkennbar.

Daneben fand sich eine trübe Schwellung des Protoplasmas. Kernnahe, optisch leere Vakuolen, wie wir sie bei der Malonatvergiftung gesehen haben (62), oder eine hydropische Degeneration fehlten hingegen (13, 14, 74). In der Intermediärzone und in der Peripherie der Leber zeigten die Kerne meist geringe Veränderungen. Im Läppchenzentrum wurden schon nach 24 Stunden Ansammlungen von Retikulumzellen und Histiozyten beobachtet als Ausdruck der bereits in Gang befindlichen mesenchymalen Reaktion. Die Läppchenperipherie war am wenigsten verändert.

Nach 48 Stunden (Abb. 2) befanden sich in einer breiten Zone im Läppchenzentrum neben isolierten Kern- und Protoplasmatrümmern noch zahlreiche nekrotische Zellen mit pyknotischen Kernen, ferner viele Retikulumzellen und Leukozyten. Häufig erschienen die Zellen der angrenzenden Zone aufgetrieben, ihr Pro-

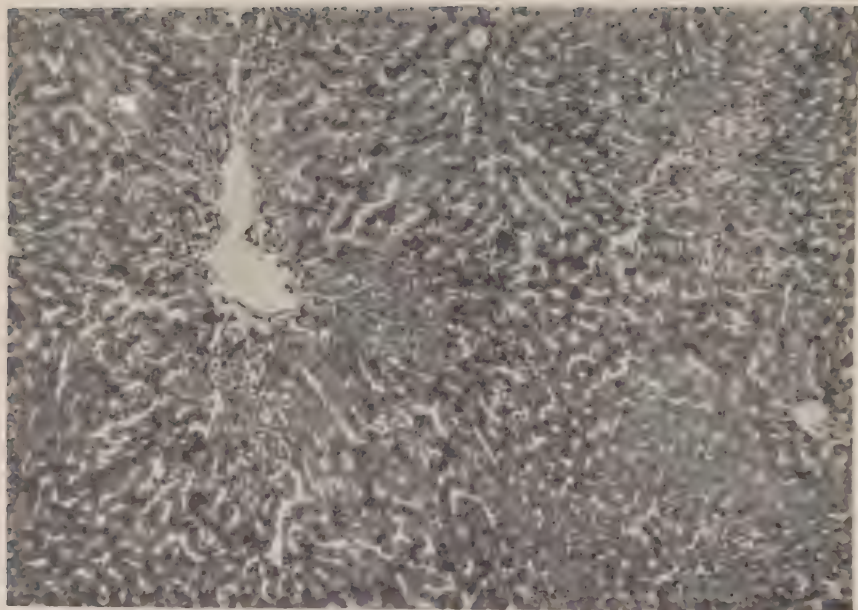


ABBILDUNG 1

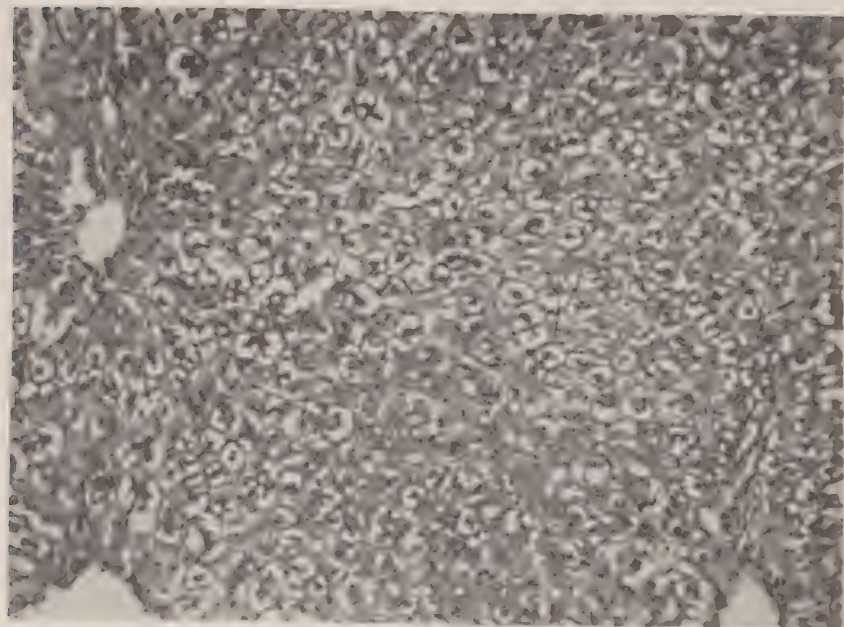


ABBILDUNG 2

toplasma schaumig (Zone der Ballonzellen nach Cameron und Karunaratne (13). Nur selten waren einzelne Vakuolen erkennbar, meist war die ganze Zelle hydro-
pisch degeneriert. Die Fettinfiltration hatte sich dagegen weitgehend zurückgebil-
det. Die den Glissonschen Feldern benachbarten Bezirke erschienen fast überall
wieder normal oder liessen Zeichen beginnender Regeneration erkennen. In man-
chen Schnitten fehlte eine nennenswerte hydropische Degeneration. Die Interme-
diärzone glich dann der Peripherie. Die mesenchymale Proliferation war nicht
mehr auf das Läppchenzentrum beschränkt, sondern auch in anderen Teilen deut-
lich. Die Kupferschen Sternzellen waren vermehrt.

Nach 14 Tagen hatte sich das Bild erneut grundlegend geändert. Kli-
nisch zeigten die Ratten bereits einen deutlichen Ikterus. Histologisch fanden sich
(Abb. 3) wieder ausgedehnte Bezirke mit massiver, grobtropfiger Fetteinlagerung
im Sinne der fettigen Degeneration. Diese Veränderungen waren am deutlichsten
in der Intermediärzone. Die Kerne der weniger geschädigten Zellen zeigten eine
stark wechselnde Grösse und hatten meist grosse, zum Teil randständige Nukleoli.
Einzelne Kerne waren pyknotisch, vereinzelt fanden sich Doppelkerne. Mitosen
waren sehr häufig. Manche Zellen zeigten eine starke Gallepigmentierung. Von
den Fettvakuolen abgesehen, war das Protoplasma feinwabig bis schollig. Die
äusserste Läppchenperipherie und zum Teil auch das Zentrum wiesen die am we-
nigsten geschädigten Zellen auf. Zentral gelegene, normal aussehende Zellbe-
zirke dürften bereits Regenerate darstellen.

Nach 23 Tagen fanden sich erneut Nekrosen, meist herdförmig vor al-
lem in der Nähe der Zentralvene und in der Intermediärzone (Abb. 4). Daneben
waren einzelne nekrotische Zellen diffus über das ganze Leberläppchen verteilt.
Die weniger geschädigten Zellen, bei denen es sich sicher zum Teil um Regene-
rate handelte, hatten sehr unterschiedliche Kerngrössen und ein scholliges Proto-
plasma. Durch die unregelmässige Regeneratbildung war die Läppchenstruktur in
manchen Bezirken verwischt. Im allgemeinen schien der Abstand zwischen Peri-
pherie und Zentrum kleiner, die Zentralvene war ziemlich weit. Dieser Befund
spricht für eine Schrumpfung des Leberläppchens. Alle noch erhaltenen Zellen
wiesen eine diffuse mittel- bis kleintropfige Verfettung auf, die sämtliche Bezirke
des Läppchens gleichmässig betraf. Die in einem früheren Stadium durch sehr grob-
tropfige fettige Degeneration auffallenden Zellverbände der Intermediärzone schie-
nen bereits weitgehend der Nekrose anheimgefallen und abgebaut.

ABBILDUNG 1

Rattenleber, 24 Stunden nach Vergiftung des Tieres mit Tetrachlorkohlenstoff. Fi-
xierung mit Formol. 7.5 μ -Gefrierschnitt. Färbung mit Sudan-Rot nach Daddi (16).
Vergrösserung 90 fach. Zentrale Nekrosen, Verfettung und trübe Schwellung in der
Intermediärzone und periportal. Auflockerung des ganzen Lebergewebes.

ABBILDUNG 2

Rattenleber, 48 Stunden nach Vergiftung des Tieres mit Tetrachlorkohlenstoff.
Technik wie bei Abb. 1. Vergrösserung 144 fach. Zentrale Nekrosen. Hydropische
Schwellung der Leberzellen in der Intermediärzone. Fast völliger Rückgang der
Fettinfiltration.



ABBILDUNG 3

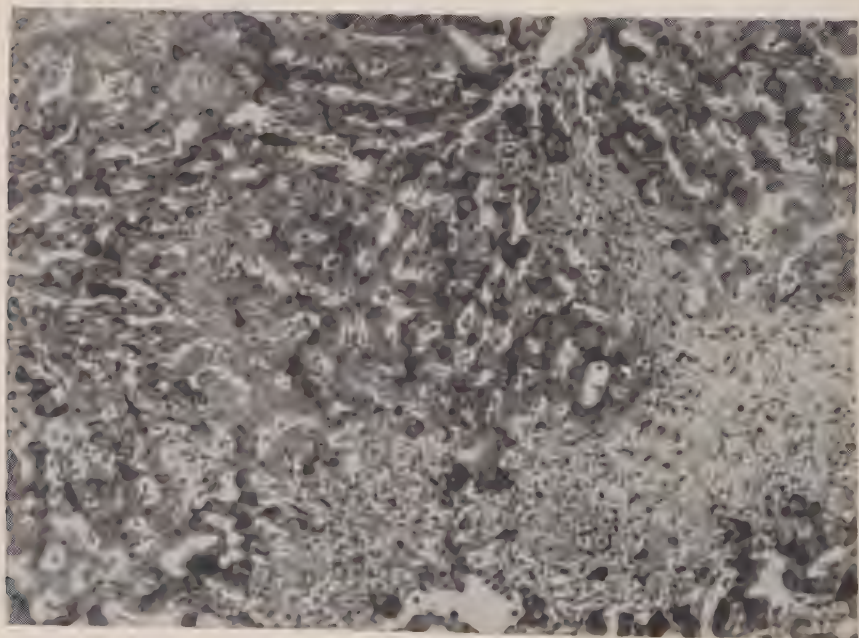


ABBILDUNG 4

B. Die freien Plasmaamino-säuren der normalen Ratte

Bei einer Serie von 14 gesunden Tieren wurden folgende 21 freien Plasmaamino-säuren quantitativ bestimmt: Alanin, α -Aminobuttersäure, Arginin, Cystin, Glutamin, Glutaminsäure, Glykokoll, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Taurin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin und Valin. Abb. 5 zeigt einen Original-Chromatographiestreifen, darüber die zugehörige Extinktionskurve. Die daraus errechneten Werte sind in Tab.1 zusammengefasst. Zum Vergleich sind dort die früher (60) für den Menschen ermittelten werte mit aufgeführt (Spalte 3).

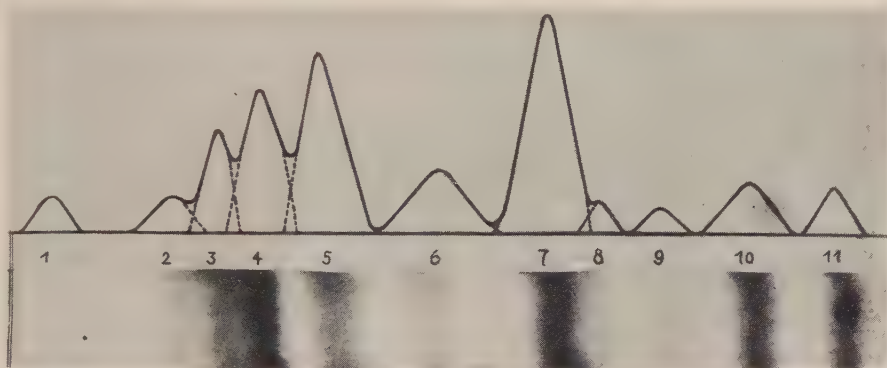


ABBILDUNG 5

Originalchromatographiestreifen der Plasmaamino-säuren einer gesunden Ratte nach Chromatographie in Isopropylalkohol/Eisessig/Wasser 7:1.5:1.5; Färbung mit Ninhydrin (später zur Haltbarmachung mit Kupfer besprüht). Darüber die zugehörige Extinktionskurve, aufgenommen mit dem Elphor-Integraphen. (1 = Cystin, 2 = Ornithin, 3 = Histidin, Lysin, Arginin, 4 = Glutamin, 5 = Taurin, Serin, Glykokoll, 6 = Glutaminsäure, Threonin, 7 = Methionin, Tryptophan, Alanin, 8 = Tyrosin, Prolin, 9 = α ABS, 10 = Phenylalanin, Valin, 11 = Isoleucin, Leucin).

ABBILDUNG 3

Rattenleber, 14 Tage nach der Vergiftung des Tieres mit Tetrachlorkohlenstoff. Technik wie bei Abb.1. Vergrößerung 144 fach. Erneute grosstropfige Verfettung der Intermediärzone.

ABBILDUNG 4

Rattenleber, 23 Tage nach der Vergiftung des Tieres mit Tetrachlorkohlenstoff. Technik wie bei Abb.1. Vergrößerung 180 fach. Herdförmige Nekrosen in unregelmässiger Anordnung.

TABELLE 1

Freie Plasmaamino­säuren in $\mu\text{gr/ml}$ bei 14 gesunden Ratten. Es wurden jeweils 21 verschiedene Aminosäuren quantitativ bestimmt und aus den Amino-Stickstoffwerten aller Einzelamino­säuren der freie Gesamt-Amino-Stickstoff berechnet. In Spalte 3 sind zum Vergleich die früher bei gesunden Versuchspersonen ermittelten Werte (60) wiedergegeben (α -ABS = α -Aminobuttersäure).

Aminosäuren	Ratte	Ratte	Mensch
	Mittelwerte $\pm \sigma$	Schwankungsbr.	Mittelwerte $\pm \sigma$
Alanin	25.37 $\pm$ 4.38	14.87 - 32.40	26.20 $\pm$ 3.30
α - ABS	3.21 $\pm$ 0.49	2.28 - 3.90	2.55 $\pm$ 0.92
Arginin	12.04 $\pm$ 1.80	10.20 - 16.85	11.50 $\pm$ 3.40
Cystin	12.31 $\pm$ 2.51	8.20 - 15.60	11.10 $\pm$ 2.90
Glutamin	29.45 $\pm$ 5.41	22.98 - 43.50	69.90 $\pm$ 14.60
Glutaminsäure	5.70 $\pm$ 1.76	2.80 - 8.75	5.20 $\pm$ 2.20
Glykokoll	23.56 $\pm$ 2.82	20.00 - 28.80	12.50 $\pm$ 0.74
Histidin	8.92 $\pm$ 2.24	6.05 - 13.96	9.60 $\pm$ 2.00
Isoleucin	9.99 $\pm$ 2.04	7.20 - 14.40	9.10 $\pm$ 2.60
Leucin	12.61 $\pm$ 2.34	9.00 - 16.45	17.10 $\pm$ 2.40
Lysin	8.61 $\pm$ 1.87	5.09 - 10.80	10.80 $\pm$ 2.70
Methionin	3.62 $\pm$ 0.89	2.40 - 5.10	3.80 $\pm$ 0.27
Ornithin	3.38 $\pm$ 1.17	1.80 - 5.26	2.70 $\pm$ 0.95
Phenylalanin	9.59 $\pm$ 1.95	7.15 - 12.40	8.80 $\pm$ 1.40
Prolin	24.15 $\pm$ 2.63	19.50 - 27.00	19.20 $\pm$ 3.10
Serin	14.52 $\pm$ 1.78	11.00 - 16.50	9.50 $\pm$ 1.30
Taurin	6.70 $\pm$ 2.37	4.40 - 10.67	5.10 $\pm$ 0.82
Threonin	16.67 $\pm$ 3.93	11.25 - 22.54	14.20 $\pm$ 1.90
Tryptophan	7.69 $\pm$ 1.72	6.00 - 10.80	10.10 $\pm$ 3.10
Tyrosin	10.20 $\pm$ 2.87	7.20 - 15.86	11.30 $\pm$ 1.70
Valin	16.71 $\pm$ 1.97	14.00 - 20.10	21.20 $\pm$ 2.60
Gesamt-Amino-N	32.08 $\pm$ 2.05	27.93 - 34.73	40.49 $\pm$ 3.38

C. Die freien Plasmaamino-säuren nach der Vergiftung mit CCl_4

Die Veränderungen nach CCl_4 -Vergiftung bieten wie erwartet ein recht vielgestaltiges Bild. In Tabelle 2 sind die Mittelwerte der einzelnen Aminosäuren und des Gesamt-Amino-Stickstoffs der verschiedenen Rattenserien sowie die Standardabweichung vom Mittelwert aufgeführt. Diejenigen Werte der vergifteten Ratten, die sich signifikant von den Mittelwerten der Normaltiere unterscheiden, sind unterstrichen⁺⁾ . In Abb. 6 sind die Werte in graphischer Darstellung zusammengefasst.

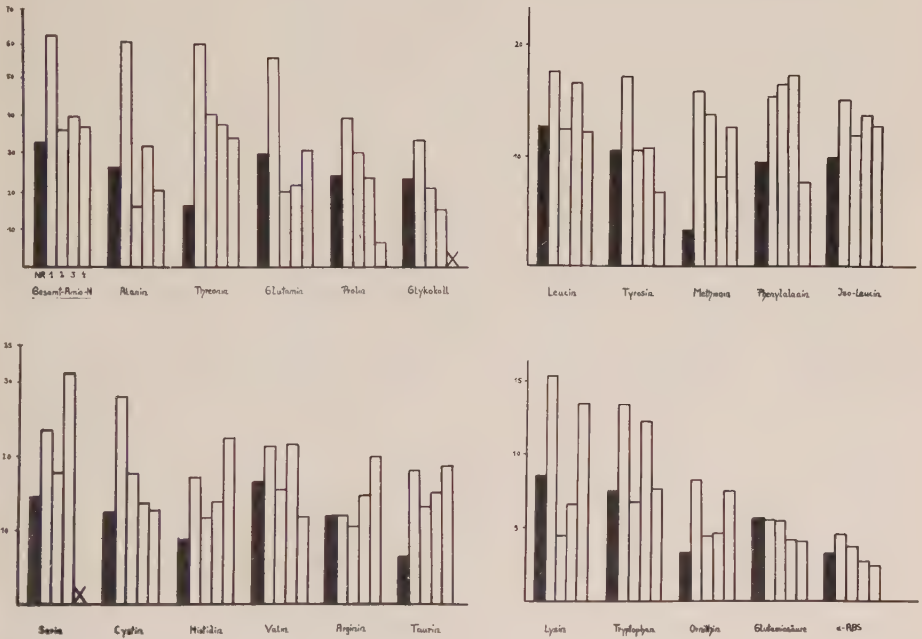


ABBILDUNG 6

Durchschnittswerte von Gesamt-Amino-Stickstoff und Einzelamino-säuren bei verschiedenen Rattenserien. Schwarze Säulen: Normalwerte. Weisse Säulen: Werte 24 Std. (1), 48 Std. (2), 14 Tage (3) und 23 Tage (4) nach Vergiftung mit CCl_4 . Ordinate: Aminosäuremengen in $\mu\text{gr}/\text{ml}$. Die Säulengruppen sind nach der absoluten Menge der Substanzen geordnet.

+) Die Signifikanz des Unterschieds der Mittelwerte wurde nach der Formel:

$$t = \frac{x_1 - x_2}{\sigma_d} \cdot \sqrt{\frac{N_1 \cdot N_2}{N_1 + N_2}} \quad \text{berechnet.}$$

$$\text{Dabei ist } \sigma_d = \sqrt{\frac{(N_1 - 1) \cdot \sigma_1^2 + (N_2 - 1) \cdot \sigma_2^2}{N_1 + N_2 - 2}}.$$

TABELLE 2

Mittelwerte (in $\mu\text{gr/ml}$) und Standardabweichung von 21 freien Plasmaamino-säuren mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteter Ratten 24 Stunden, 48 Stunden, 14 Tage und 23 Tage nach Applikation des Giftes. Bei den nach 23 Tagen getö-teten Tieren konnten Serin und Glykokoll aus technischen Gründen nur gemein-sam bestimmt werden. Der Summenwert dieser beiden Substanzen betrug: $0.4815 \pm 0.0734 \mu\text{Mol/ml}$ (Angabe in $\mu\text{gr/ml}$ nicht exakt möglich). Für Normalwerte vgl. Tabelle 1. Für die unterstrichenen Werte war der Unterschied zum Mittelwert der Normaltiere hoch signifikant ($t > 3.674$ Zufallswahrschein-lichkeit $< 1 : 1000$). Auch von den übrigen Werten wichen einige noch signifikant von den Normalwerten ab ($t > 2.763$ Zufallswahrscheinlichkeit $< 1 : 100$).

Aminosäuren	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 14 Tagen	nach 23 Tagen
Alanin	<u>61.42</u> $\pm$ 17.91	<u>16.62</u> $\pm$ 4.11	<u>31.70</u> $\pm$ 3.93	<u>20.94</u> $\pm$ 3.99
α - ABS	<u>4.56</u> $\pm$ 1.45	<u>3.54</u> $\pm$ 1.24	<u>2.75</u> $\pm$ 0.49	<u>2.45</u> $\pm$ 0.82
Arginin	<u>12.03</u> $\pm$ 2.77	<u>10.63</u> $\pm$ 1.72	<u>14.54</u> $\pm$ 2.88	<u>20.26</u> $\pm$ 3.90
Cystin	<u>28.07</u> $\pm$ 5.06	<u>17.49</u> $\pm$ 4.23	<u>13.77</u> $\pm$ 1.57	<u>12.60</u> $\pm$ 0.85
Glutamin	<u>57.50</u> $\pm$ 11.81	<u>20.18</u> $\pm$ 5.63	<u>22.41</u> $\pm$ 3.63	<u>31.52</u> $\pm$ 5.80
Glusaminsäure	<u>5.64</u> $\pm$ 1.91	<u>5.62</u> $\pm$ 1.89	<u>4.07</u> $\pm$ 1.89	<u>4.07</u> $\pm$ 0.25
Glykokoll	<u>33.94</u> $\pm$ 6.29	<u>21.80</u> $\pm$ 3.78	<u>15.52</u> $\pm$ 4.05	
Histidin	<u>17.19</u> $\pm$ 2.00	<u>11.81</u> $\pm$ 3.47	<u>13.66</u> $\pm$ 2.32	<u>22.18</u> $\pm$ 4.33
Isoleucin	<u>15.40</u> $\pm$ 3.52	<u>11.50</u> $\pm$ 2.16	<u>13.50</u> $\pm$ 1.20	<u>12.95</u> $\pm$ 2.41
Leucin	<u>18.55</u> $\pm$ 3.71	<u>12.12</u> $\pm$ 2.23	<u>16.72</u> $\pm$ 1.61	<u>12.07</u> $\pm$ 1.98
Lysin	<u>15.30</u> $\pm$ 3.62	<u>4.58</u> $\pm$ 2.87	<u>6.58</u> $\pm$ 1.46	<u>13.63</u> $\pm$ 1.28
Methionin	<u>15.70</u> $\pm$ 3.12	<u>13.90</u> $\pm$ 3.21	<u>8.01</u> $\pm$ 2.01	<u>12.76</u> $\pm$ 2.97
Ornithin	<u>8.33</u> $\pm$ 1.51	<u>4.29</u> $\pm$ 0.95	<u>4.57</u> $\pm$ 1.80	<u>7.69</u> $\pm$ 0.42
Phenylalanin	<u>15.48</u> $\pm$ 3.14	<u>16.60</u> $\pm$ 3.49	<u>17.69</u> $\pm$ 2.44	<u>7.72</u> $\pm$ 3.59
Prolin	<u>39.00</u> $\pm$ 5.88	<u>30.52</u> $\pm$ 5.85	<u>23.64</u> $\pm$ 3.98	<u>7.08</u> $\pm$ 1.38
Serin	<u>23.91</u> $\pm$ 3.81	<u>17.63</u> $\pm$ 0.94	<u>31.24</u> $\pm$ 4.13	
Taurin	<u>17.97</u> $\pm$ 1.87	<u>13.67</u> $\pm$ 3.12	<u>15.52</u> $\pm$ 1.73	<u>18.83</u> $\pm$ 4.62
Threonin	<u>60.16</u> $\pm$ 12.14	<u>40.65</u> $\pm$ 7.87	<u>37.42</u> $\pm$ 3.29	<u>34.22</u> $\pm$ 3.80
Tryptophan	<u>13.59</u> $\pm$ 2.36	<u>6.88</u> $\pm$ 1.45	<u>12.25</u> $\pm$ 2.57	<u>7.77</u> $\pm$ 0.84
Tyrosin	<u>17.07</u> $\pm$ 4.37	<u>10.20</u> $\pm$ 2.58	<u>10.60</u> $\pm$ 1.82	<u>9.10</u> $\pm$ 2.34
Valin	<u>21.40</u> $\pm$ 2.32	<u>15.90</u> $\pm$ 2.79	<u>21.08</u> $\pm$ 2.69	<u>11.75</u> $\pm$ 0.45
Gesamt-Am-N	<u>63.29</u> $\pm$ 6.36	<u>35.97</u> $\pm$ 2.53	<u>39.64</u> $\pm$ 2.92	<u>37.77</u> $\pm$ 2.85

24 Stunden nach Applikation des Giftes stieg der freie Gesamt-Amino-Stickstoff auf etwa 200 % des Ausgangswertes. Der Vergleich der Abb. 7 mit dem Chromatogramm einer Normalratte (Abb. 5) gibt einen unmittelbaren Eindruck vom Ausmass der geschilderten Veränderungen.

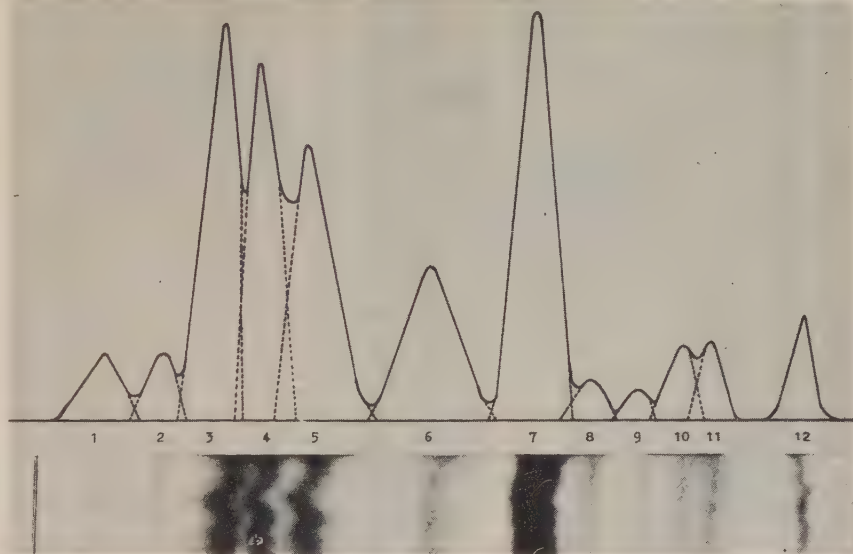


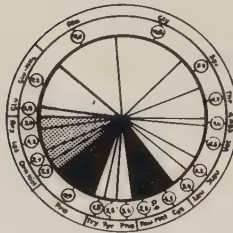
ABBILDUNG 7

Originalchromatographiestreifen der Plasmaamino-säuren einer mit CCl_4 vergifteten Ratte 24 Stunden nach Applikation des Giftes. Auftragsmenge und Technik waren die gleiche wie bei Abb. 9. Die starke Vermehrung der meisten Aminosäuren ist unmittelbar erkennbar.

Die Einzelamino-säuren verhielten sich dabei sehr unterschiedlich. Während Cystin auf 228 % seines Normalwertes, Alanin auf 241 %, Ornithin auf 257 %, Taurin auf 268 %, Threonin auf 360 % und Methionin sogar auf 433 % anstieg, erhöhte sich die Konzentration von Valin nur auf 128 % und von α -Aminobuttersäure auf 142 %. Die Konzentration von Arginin und von Glutaminsäure blieb sogar völlig unverändert. Dies unterschiedliche Verhalten der einzelnen Aminosäuren führte zu Verschiebungen im normalen Aminosäurespektrum, die sich am besten überblicken lassen, wenn man die Absolutmenge sämtlicher Aminosäuren in Prozent des Gesamt-Amino-Stickstoffs ausdrückt (Abb. 8).

Nach 48 Stunden hatte der Gesamt-Amino-Stickstoff seinen Ausgangswert fast wieder erreicht, obwohl verschiedene Einzelamino-säuren noch stark von ihrer normalen Konzentration abwichen. Diese Abweichungen kompensierten sich jedoch weitgehend und wirkten sich daher nicht auf den Gesamt-Amino-Stickstoff aus. Stark vermehrt blieben die schwefelhaltigen Aminosäuren, vor allem das

Normal



	Normal	24 Std	48 Std	14 Tg	23 Tg
Neutrale A.S.	52,6	54,9	51,3	50,4	49,6
S-haltige	7,7	10,5	14,3	8,8	12,9
Cyclische A.S.	7,7	0,0	8,2	8,8	4,9
Basische A.S.	11,8	11,7	9,3	9,1	21,6
Stick	9,0	6,3	0,5	7,3	3,8
Glukaminsäure-Stickstoff	11,2	10,6	7,3	6,7	8,8

24 Stunden



48 Stunden



14 Tagen



23 Tagen



ABBILDUNG 8

Schematische Übersicht über die Veränderungen im Spektrum der freien Plasmaamino-säuren nach Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff. Die einzelnen Aminosäuregruppen sind als verschieden getönte Kreissektoren dargestellt. Die Zahlen bedeuten den Anteil der jeweiligen Aminosäure in Prozent des als 100 gesetzten, rechnerisch ermittelten Gesamt-Amino-Stickstoffs.

Methionin. Auch die Konzentration von Threonin und Phenylalanin blieb weiterhin sehr hoch. Threonin erreichte sogar mit 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ den höchsten Absolutwert von allen Plasmaamino-säuren. Deutlich vermindert waren vor allem Alanin, Glutamin und Lysin, in geringerem Ausmass auch Valin, Arginin und Tryptophan. Dadurch war im Aminosäurespektrum der Anteil der schwefelhaltigen und cyclischen Aminosäuren auf Kosten der Neutralen und Basen vermehrt. Auch innerhalb dieser Gruppen war die Relation der einzelnen Aminosäuren zueinander verschoben, bei den Basen auf Kosten von Lysin, bei den Neutralen vor allem auf Kosten von Alanin, Glycin und Valin.

Nach 14 Tagen, wenn sich in ausgedehnten Zellbezirken der Leber schwere regressive Veränderungen mit massiver grobtropfiger Verfettung des Protoplasmas und schweren Kernveränderungen nachweisen liessen, war ein erneuter Anstieg verschiedener Aminosäuren festzustellen.

Den stärksten absoluten und relativen Anstieg zeigte jetzt das Serin. Sein Anteil am Gesamt-Amino-Stickstoff stieg von normal 5.7 % auf 10.3 %. Auch die Konzentration von Threonin, Leucin, Isoleucin, Valin, Phenylalanin und Tryptophan stieg an. Bei den schwefelhaltigen Aminosäuren hatte sich die anfangs über 400 % des Normalwertes betragende Methioninvermehrung auf etwa 200 % zurückgebildet. Dagegen war die Konzentration von Taurin jetzt so stark erhöht, dass sie diejenige des Cystins übertraf. Bemerkenswert war ferner die weitere Konzentrationsabnahme von Glutamin und Glutaminsäure, von Glycin und von Lysin. Während bei der normalen Ratte die Konzentration von Glycin die höchste aller Plasmaamino-säuren darstellt, wurde sie jetzt von Alanin, Serin und Threonin übertroffen. Der Anteil von Glutaminsäure und Glutamin am Gesamt-Amino-Stickstoff ging normal. 11.1 % auf 6.6 % zurück. Die Konzentration von Prolin, Cystin, Tyrosin und α -Aminobuttersäure war kaum verändert. Trotz dieser Verschiebungen im Aminosäurespektrum blieb der Gesamt-Amino-Stickstoff wieder fast gleich.

Nach 23 Tagen, im Stadium der subakuten Leberdystrophie mit herdförmigen Lebernekrosen und spontanem Tod der meisten Tiere wurden wieder andere Veränderungen im Aminosäurespektrum beobachtet. Am auffallendsten war jetzt ein erheblicher Anstieg der Basen, vor allem von Histidin und Ornithin, aber auch von Arginin und Lysin. Der Anteil der Basen am Gesamt-Amino-Stickstoff stieg dadurch plötzlich von 9 % am 14. Tag auf 21.6 % am 23. Tag. Auch die Konzentration von Threonin und von Methionin hatte zugenommen. Die Konzentration von Cystin fiel dagegen weiter ab. Die Relation von Cystin: Taurin betrug jetzt etwa 1 : 1.5, also die Umkehrung des normalen Verhältnisses von 2 : 1. Die starke Vermehrung der schwefelhaltigen und basischen Aminosäuren ging diesmal vor allem auf Kosten des Prolins, der cyclischen und neutralen Aminosäuren, wie Alanin, Valin, Tyrosin, Phenylalanin und α -Aminobuttersäure. Auch die Glutaminsäure sank stärker ab. Am auffälligsten war der sturzartige Prolinabfall, der zu einer Verminderung des Prolinanteils am Gesamt-Amino-Stickstoff von normal 9 % auf 2.2 % führte.

D. Die freien Harnaminosäuren vor und nach der Vergiftung mit CCl_4

Bei 13 Tieren wurden zusätzlich die freien Harnaminosäuren vor und den ersten und zweiten Tag nach der Applikation des Giftes untersucht. Bei 3 Tieren wurden diese Untersuchungen auch auf die 3 folgenden Tage ausgedehnt.

Der freie α -Amino-Stickstoff betrug vor der Vergiftung 12.5 - 24.8 $\mu\text{Mol}/24$ Stunden bei einer Harnmenge von 1.5 - 3.9 ml. Nach der Vergiftung wurde ausnahmslos eine stärkere Aminoacidurie beobachtet mit einer Ausscheidung von 30.0 - 77.5 μMol und Harnmengen von 2.6 - 5.0 ml in 24 Stunden. Die Auftragsmenge für die Hochspannungselektrophore-Chromatogramme wurde nach dem vorher bestimmten Gesamt-Aminosäuregehalt des Harns berechnet, so dass stets die gleiche absolute Aminosäuremenge auf ein Chromatogramm aufgetragen wurde. Sie betrug 18 μMol . Durch dieses Vorgehen lassen sich Verschiebungen im Aminosäure-Spektrum leichter erkennen.

Die Zusammensetzung der freien Harnaminosäuren der normalen Ratte gleicht im wesentlichen der des Menschen (21, 24, 48, 58, 64, 81, 82, 104, 107, 112, 113). Wir fanden auf mit Ninhydrin gefärbten Chromatogrammen meist etwa 18-25 verschiedene Flecken, von denen gewöhnlich 20 identifiziert werden konnten. Konstant nachweisbar waren Äthanolamin, Alanin, α -Aminobuttersäure, Arginin, Cystin, Glutamin, Glutaminsäure, Glycin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Taurin, Threonin, Tyrosin, Tryptophan und Valin. Prolin, Phenylalanin und Taurin werden vor der normalen Ratte im Vergleich zum Menschen vermehrt ausgeschieden.

Kurz nach der Vergiftung wurde in allen Fällen ein sehr starker Anstieg von Äthanolamin und Taurin beobachtet. Darüber hinaus stiegen meist auch Glykokoll und Alanin und in etwa der Hälfte der Fälle die α -Aminobuttersäure stark an. Deutlich vermehrt waren ferner Prolin, Tyrosin, Leucin, Phenylalanin und Glutaminsäure. Im Verlauf von einigen Tagen kam es zu einem weiteren Anstieg der genannten Aminosäuren, vor allem aber von Alanin. Da stets die gleiche Gesamtaminosäuremenge auf die Chromatogramme aufgetragen wurde, überwog der Alaninfleck allmählich sehr stark die Flecken der restlichen Aminosäuren. Diese waren daher schliesslich nur noch ziemlich schwach sichtbar.

DISKUSSION

Unsere Werte für die freien Plasmaaminosäuren der normalen Ratte stimmen gut mit früher ermittelten Werten gesunder Versuchspersonen (60) überein. α -Aminobuttersäure, Glykokoll, Prolin, Serin, Taurin und Threonin liegen bei der Ratte im allgemeinen in etwas höherer Konzentration vor, Glutamin, Leucin, Lysin, Tryptophan und Valin sind dagegen meist in etwas geringerer Menge vorhanden. Diese Abweichungen fallen jedoch lediglich bei Glykokoll und bei Glutamin ins Gewicht. An der Ratte gewonnene Ergebnisse dürften daher mit gewissen Einschränkungen auch auf den Menschen übertragbar sein.

Vergleichende Untersuchungen, die über spezieiseigentümliche Aminosäurespektren Auskunft geben, wurden an einem grösseren Material von ein und demselben Autor bisher nicht durchgeführt. Die mit verschiedener Methodik gewonnenen Werte verschiedener Autoren lassen sich dagegen oft schlecht vergleichen.

Die individuelle Schwankungsbreite der untersuchten Rattenserie entspricht ungefähr der Schwankungsbreite zwischen verschiedenen menschlichen Individuen. Auch bei der normalen Ratte bestätigt sich die früher (60) für den Menschen getroffene Feststellung, dass der aus den einzelnen Aminosäuren errechnete freie Gesamt-Amino-Stickstoff die konstanteste Grösse darstellt. Seine Standardabweichung ist im Verhältnis zu seiner absoluten Grösse geringer als die aller Einzelaminosäuren.

Bei menschlichen Leberschäden wurden bisher verschiedentlich Abweichungen im Blutaminosäurespektrum beschrieben (4, 11, 18, 55, 57, 64, 83, 105, 124, 129, 132, 138). Ihre speziellen Ursachen sind jedoch kaum bekannt, da wir über das biochemische Substrat der meisten menschlichen Lebererkrankungen bis heute noch recht wenig wissen. Die stoffwechselchemisch besser untersuchten experimentellen Lebervergiftungen lassen Rückschlüsse auf menschliche Leberkrankheiten nur mit Vorbehalt zu. Allgemeingültige Schlussfolgerungen bedürfen daher wenigstens der Zusammenschau mehrerer solcher experimenteller Schäden durch Gifte mit verschiedenem Angriffspunkt. Die hier vorliegenden Ergebnisse stellen demgemäss nur einen ersten Versuch auf diesem Wege dar.

Tetrachlorkohlenstoff wurde als erstes Gift gewählt, weil seine Wirkung auf die Leberzelle bisher am besten bekannt ist (13, 28, 32, 43, 52, 53, 71, 72, 74, 114, 127). Eine Fülle von Arbeiten beschäftigen sich in zunehmendem Masse auch mit den biochemischen Veränderungen durch CCl_4 (7, 9, 10, 12, 14, 19, 25-30, 42, 50, 54, 67, 86, 96-100, 106, 117, 120, 121, 123, 141, 142). Danach werden vorwiegend die Lebermitochondrien geschädigt. Wahrscheinlich wird die Membranstruktur dieser Zellorganellen so verändert, dass der Elektrolyt- und Wassergehalt nicht mehr konstant gehalten werden können. Ausserdem scheinen gewisse Co-Enzyme verloren zu gehen, so dass eine die weitere Energieproduktion schwer beeinträchtigende Desintegration der Fermentsysteme der Carbonsäurecyclus eintritt, und die Zellatmung absinkt. Die Oxydation verschiedener Substrate wird dabei recht unterschiedlich beeinflusst, die oxydative Phosphorylierung wird entkoppelt.

Eine gewisse Schwierigkeit liegt in der richtigen Dosierung des Giftes. Die Angaben verschiedener Autoren zur Erreichung bestimmter histologischer Veränderungen schwanken ausserordentlich. Häufig wurden von demselben Autor mit verschiedener Dosis gleiche histologische Bilder erreicht. Auch das Alter der Tiere scheint von Einfluss.

Ein Nachteil für die sichere Zuordnung biochemischer Veränderungen zu bestimmten histologischen Bildern liegt ferner in der Tatsache, dass bei der CCl_4 -Vergiftung Nekrose, Verfettung und Regeneration gleichzeitig nebeneinander bestehen können. Ausserdem werden nicht nur die Leberzellen geschädigt, sondern wahrscheinlich auch andere Organe (25, 26, 109, 110), insbesondere die Niere. Die

von uns beobachtete Aminoacidurie ist sicher nicht allein durch die Leberschädigung zu erklären. Der α -Aminostickstoff im Harn war nämlich auch dann noch stark erhöht, als der Gesamt-Amino-Stickstoff des Blutes bereits wieder normal war. Teilweise wurden gerade die Aminosäuren vermehrt ausgeschieden, die im Blut nicht oder nur wenig erhöht waren. Die Aminoacidurie dürfte daher eher der von Eden und Mitarbeitern (26) beobachteten und als Folge eines Tubulusschadens gedeuteten Kreatinurie entsprechen. Die Möglichkeit, dass hepatogen bedingte Abweichungen der Plasmaamino-säuren durch eine renale Aminoacidurie modifiziert werden, ist daher nicht auszuschliessen. Weitere Untersuchungen mit spezifischeren Lebergiften werden die Beurteilung der gefundenen Veränderungen erleichtern.

Den verschiedenen Vergiftungsstadien entsprachen charakteristische Veränderungen der freien Plasmaamino-säuren. Der nach 24 Stunden beobachtete Konzentrationsanstieg fast aller Aminosäuren ist dabei sicher nur zum Teil direkte Folge eines Abbaus von nekrotischem Lebergewebe. Im wesentlichen dürfte er durch eine vorübergehende Leberinsuffizienz bedingt sein. Auch wenn dieses wichtigste Organ für Aminosäurestoffwechsel und Harnstoffsynthese (5, 6, 75) in toto entfernt wird, steigt der freie Gesamt-Amino-Stickstoff in Blut, Harn und Geweben sofort stark an (75). Bei der akuten Leberdystrophie des Menschen wird ebenfalls ein Aminosäureanstieg beobachtet (18). Die Sonderstellung, die dabei seit den Untersuchungen von Rokitsansky (101) und von Frerichs (40) in der klinischen Medizin der Nachweis von Leucin und Tyrosin einnimmt, dürfte hauptsächlich auf physikalischen Eigenschaften dieser Substanzen beruhen, die sie besonders leicht auskristallisieren und nachweisen lassen. Bei der CCl_4 -Vergiftung bleibt ihr Anstieg sowohl im Blut wie im Harn hinter dem anderer Aminosäuren zurück.

Die Normalisierung des Gesamt-Amino-Stickstoffs bereits nach 48 Stunden zeigt, dass die verbleibenden Zellen sich wieder teilweise erholt haben. Die offenbar für den Organismus sehr wichtige Regulation des Gesamt-Amino-Stickstoffs kann wieder gewährleistet werden, obwohl das Aminosäurespektrum noch stark pathologisch ist. Dem erneuten Nekroseschub im Spätstadium entsprach ein erneuter Anstieg der meisten Aminosäuren. Während jedoch unmittelbar nach der Giftapplikation akute Nekrosen mit starker grobtropfiger Verfettung der übrigen Leber einhergingen, war nach 14 Tagen zunächst nur eine grobtropfige Verfettung erkennbar, der erst nach 23 Tagen herdförmige Nekrosen folgten. Dementsprechend waren nach 14 Tagen nicht wie zu Beginn alle Aminosäuren gleichzeitig maximal vermehrt. Leucin, Valin, Serin und Tryptophan erreichten nach 14 Tagen erneut ein Maximum, Taurin und die basischen Aminosäuren Histidin, Ornithin, Arginin und Lysin jedoch erst am 23. Tag nach Eintritt der Nekrosen.

Der Gesamt-Amino-Stickstoff blieb vom ersten akuten Stadium abgesehen ziemlich konstant. Da er auch bei normalen Ratten, bei gesunden Menschen (60) und wahrscheinlich auch bei menschlichen Lebererkrankungen (64) wesentlich weniger schwankt als die Einzelamino-säuren, scheint er einer sehr viel strengeren Regulation zu unterliegen. Möglicherweise ist hier ein echtes biologisches Regel-

system im Sinne von R. Wagner (126) anzunehmen, das diese Konstanz garantiert. Über seine Art lassen sich freilich einstweilen nur Vermutungen anstellen.

Das abweichende Verhalten einiger Aminosäuren bedarf noch besonderer Würdigung. Glutaminsäure war z.B. zu keinem Zeitpunkt erhöht, in den späteren Stadien war sie ebenso wie ihr Säureamid erheblich vermindert. Glutaminsäure wird als einzige Aminosäure in der normalen Leber in grösseren Mengen gebildet und liegt daher im Lebervenenblut in höherer Konzentration vor als im arteriellen Blut (81, 92). In der geschädigten Leber ist ihre Neubildung aus α -Ketoglutarinsäure gestört (15, 116). Die hochbeachtete, relative und absolute Glutaminsäureverminderung ist sicher für den Gesamtorganismus nicht ohne Bedeutung, da Glutaminsäure im intermediären Aminosäurestoffwechsel, vor allem bei Umaninierungsvorgängen und bei der Amoniak-Entgiftung eine Schlüsselstellung einnimmt (3, 68, 115, 116, 125, 130, 136, 137). Die in ihrer Wirkung bekanntlich sehr umstrittene therapeutische Zufuhr dieser Aminosäure im Leberkoma (20, 31, 37, 56, 70, 80, 88, 89, 103, 133) würde danach sinnvoll erscheinen.

Auch Arginin, das ebenfalls für die NH_3 -Entgiftung von zentraler Bedeutung ist und daher beim Leberkoma heute viel verwandt wird (22, 23, 33, 35, 44-46, 49, 76, 79, 87-89, 94, 95, 139), stieg als einzige Aminosäure im akuten Vergiftungsstadium nicht an. Am zweiten Tag war es ebenso wie Lysin, eine andere Aminosäure des Krebs-Henseleit'schen Ammoniakzyklus (69) sogar vermindert. Möglicherweise ist der bei schweren Leberschädigungen des Menschen bekannte Ammoniak-Anstieg im Blut (1, 2, 8, 17, 35, 36, 38, 45, 47, 51, 70, 76-78, 85, 90, 108, 111, 118, 119, 122, 127, 131, 134, 135, 140) zum Teil Folge einer Unfähigkeit der Leber, genügend Arginin bereitzustellen. Ob die im Spätstadium der CCl_4 -Vergiftung beobachtete leichte Argininvermehrung als Anpassungsvorgang gedeutet werden darf, lassen wir dahingestellt.

Besondere Beachtung verdient das Verhalten der schwefelhaltigen Stoffe. Methionin war von allen Aminosäuren am stärksten vermehrt. Auch Hepatitis, Zirrhose und akute gelbe Leberdystrophie des Menschen gehen häufig mit einem Anstieg von freiem Methionin einher (83, 84, 105, 129). Die Plasmaproteine, die ja zum weit überwiegenden Teil von der Leber gebildet werden, verarmen dabei von dieser Aminosäure (84). Die geschädigte Leber scheint also nicht mehr in der Lage zu sein, Methionin in normaler Weise zu verarbeiten und in die Proteine einzubauen.

Cystin, das im Körper zum Teil aus Methionin gebildet wird (39), fanden wir dagegen nur im ersten akuten Stadium in erheblich höherer Konzentration. Bei Leberkranken wurde es von Walshe und Senior (132) häufiger vermehrt gefunden. Die Taurinkonzentration war ständig stark erhöht, wohl ein Zeichen für die mangelhafte Oxydationsfähigkeit der geschädigten Leber für die Endoxydation des Schwefels zu anorganischem Sulfat.

Die erhebliche Verschiebung im normalen Aminosäurespektrum, die durch die teilweise gegensinnigen Konzentrationsänderungen der Einzelaminosäuren bedingt werden, sind sicher für den Gesamtorganismus nicht belanglos. Zwar ist auch

normalerweise die Relation der einzelnen Aminosäuren zueinander nicht so streng geregelt wie die des Gesamt-Aminosäure-Stickstoffs. Auch beim Normalen werden stärkere Schwankungen einzelner Aminosäuren beobachtet. Lang (73) hat besonders darauf hingewiesen, dass stärkere Imbalancen im Aminosäurespektrum nicht nur die geordnete Aminosäureaufnahme in die Zellen stören, sondern dass auch an anderen Stellen des intermediären Stoffwechsels Konkurrenzen und Antagonismen zwischen den verschiedenen Aminosäuren bestehen. Ob bei der akuten Leberdystrophie des Menschen ähnliche Verschiebungen im Aminosäurespektrum vorliegen, und ob diese vielleicht therapeutisch beeinflusst werden können, bedarf weiterer Untersuchungen.

ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Bei gesunden Ratten wurden 21 freie Plasmaamino-säuren nebeneinander quantitativ bestimmt und daraus der freie Gesamt-Amino-Stickstoff berechnet. Abgesehen von Glykokoll und Glutamin stimmen die Werte gut mit früher für den Menschen ermittelten Werten überein.
- 2) Bei anderen Ratten wurde mit hohen CCl_4 -Dosen eine akute schwere Leberschädigung gesetzt. Die Tiere wurden 24⁴ Stunden, 48 Stunden, 14 Tage oder 23 Tage später getötet und die freien Plasmaamino-säuren quantitativ bestimmt. Bei einigen Tieren wurden während der ersten Tage auch die Harnamino-säuren untersucht. Die Lebern sämtlicher Ratten wurden histologisch aufgearbeitet.
- 3) Den verschiedenen Vergiftungsstadien entsprachen jeweils charakteristische Veränderungen der freien Plasmaamino-säuren. Zu Beginn stieg die Konzentration der meisten Aminosäuren ausser Glutaminsäure und Arginin steil an. Der Gesamt-Amino-Stickstoff betrug 200 % der Norm. Später verhielten sich die einzelnen Stoffe sehr unterschiedlich. Dadurch wurden ihre physiologischen Relationen zueinander stark verschoben, und es resultierten erhebliche Imbalanzen im Aminosäurespektrum.
- 4) Da sich die Konzentrationsänderungen der Einzelamino-säuren gegenseitig kompensieren, war der Gesamt-Amino-Stickstoff bereits nach 48 Stunden nicht mehr signifikant erhöht und stieg auch im Spätstadium nicht mehr wesentlich an. Er unterliegt also auch bei schwerer toxischer Leberschädigung einer strengeren Regulation als seine einzelnen Komponenten.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ARZT, C. P.; T. V. STANLEY, W. R. EURE, H. G. LANGFORD, J. R. SNAVELY:
Inflow and outflow changes in ammonia concentrations of liver,
muscle and brain.
Surgery 44, 22, 1958.
2. BELKIN, G. A.; H. O. CONN: Blood ammonia concentration and bromsulfalein
retention in upper gastrointestinal hemorrhage.
New England J. Med. 260, 530, 1959.
3. BESMAN, S. P.; A. N. BESSMAN: The cerebral and peripheral uptake of am-
monia in liver disease with an hypothesis for the mechanism of hepa-
tic coma.
J. clin. Invest. 34, 622, 1955.
4. BICKEL, H. und F. SOUCHON: Die Papierchromatographie in der Kinderheil-
kunde.
Arch. Kinderheilkunde 31. Beiheft, 1955.
5. BOLLMAN, J. L.; F. C. MANN, T. B. MAGATH: Studies on the physiology of
the liver. VIII. Effect of total removal of the liver on the formation
of urea.
Am. J. Physiol. 69, 371, 1924.
6. BOLLMAN, J. L.; F. C. MANN, T. B. MAGATH: Studies on the physiology of the
liver. XV. Effect of total removal of the liver on deamination.
Am. J. physiol. 78, 258, 1926.
7. BÖRNIG, H.; K. STADE, H. FRUNDER, G. RICHTER: Der Stoffwechsel geschä-
digter Gewebe. IV. Blutzucker-, Leberglykogen- und Leberglukose-
konzentration bei mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Mäusen nach
Glukosebelastung.
Hoppe-Seylers. Z. physiol. Chem. 310, 232, 1958.
8. BORDIN, E. H.: Blood ammonia determination as a diagnostic tool in the dif-
ferentiation of upper gastrointestinal bleeding.
Gastroenterology 37, 457, 1959.
9. BROWN, L. M. und M. F. HARRISON: Effect of a single injection of carbon
tetrachloride upon the activity of the pseudo-cholin-esterase in the
liver and serum of male and female rats.
Nature 168, 83, 1951.
10. BRUNS, F. H. und J. NEUHAUS: Die Aktivität einiger Serum- und Leberenzyme
beim experimentellen Tetrachlorkohlenstoffschaden der Maus.
Biochem. J. 326, 242, 1955.

11. CACHIN, M. ; J.DURLACH, J.BLASS: Les acides aminés du sérum sanguin en pathologie hépatique.
Semammee Hop. 3231, 1952.
12. CALVERT, D. N. und T. M. BRODIE: Biochemical alterations of liver function by the halogenated hydrocarbons. I. In vitro and in vivo changes and their modification by ethylendiamine tetraacetate (Versene).
J. Pharmacol. & exp. Therap. 124, 273, 1958.
13. CAMERON, G. R. und W. A. E. KARUNARATNE: Carbon tetrachloride cirrhosis in relation to liver regeneration.
J. Path. & Bact. 42, 1, 1936.
14. CHRISTIE, G. S. und J. D. JUDAH: Mechanism of action of carbon tetrachloride on liver cells.
Proc. Roy. Soc. London 142, 241, 1954.
15. DAWSON, A. M. ; W. S. ROSENTHAL, J. de GROOTE, S. SHERLOCK: Blood pyruvic acid and alpha-ketoglutaric-acid levels in liver disease and hepatic coma.
Lancet 392, 1957.
16. DADDI, L.: Nouvelle méthode pour colorer le gras dans les tissus.
Arch. ital. Biol. 26, 142, 1896. S. auch B. Romeis (100).
17. DEMLING, L. und H. SCHÖN: Über die Entwicklung der Lebertherapie im Laufe der letzten drei Jahre.
Deutsch. Med. J. 198, 1958.
18. DENT, C. E.: Der Aminosäurestoffwechsel.
Schweiz. med. Wschr. 80, 752, 1950.
19. DIANZANI, M. U.: Uncoupling of oxydative phosphorylation in mitochondria from fatty livers.
Biochem. et Biophys. Acta 14, 514, 1954.
20. DUDA, G. D. und P. HANDLER: Kinetics of ammonia metabolism in vivo.
J. biol. Chem. 232, 303, 1958.
21. DUNN, M. S. ; M. N. CAMIEN, S. SHANKMAN, H. BLOCK: Urinary excretion of twelve amino acids by normal male and female subjects mesured micro-biologically.
Arch. Biochem. 13, 207, 1947.
22. DU RUISSEAU, J. P. ; J. P. GREENSTEIN, M. WINNITZ, S. M. BIRNBAUM:
Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo.
IV. Blood ammonia and urea levels following intraperitoneal administration of amino acids and ammonium acetat and the effect of arginine the-reon.
Arch. Biochem. 64, 355, 1956.

23. DU RUISSEAU, J.P.; J.P.GREENSTEIN, M. WINNITZ, S.M.BIRNBAUM:
Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo. VI. Free amino acid levels in the tissues of rats protected against ammonia toxicity.
Arch. Biochem. 68, 161, 1957.
24. ECKHARDT, R.D. und C.S.DAVIDSON: Urinary excretion of amino acids by a normal adult receiving diets of varied protein content.
J. biol. Chem. 177, 687, 1949.
25. EDEN, E. und D.D.HARRISON: Studies in carbon tetrachloride poisoning. III. The possible role of sulphur amino acids in detoxication.
Austral. J. exp. Biol. 33, 85, 1955.
26. EDEN, E.; D.D.HARRISON, D.W.LINNANE: Studies in carbon tetrachloride poisoning. II. The effect on creatine metabolism.
Austral. J. exp. Biol. 32, 341, 1954.
27. EGER, W.: Das Verhalten der Phosphoamidase in der Leber bei Tetrachlorkohlenstoff- und Allylkoholvergiftung.
Virchows Archiv 325, 648, 1954.
28. EGER, W.: Beiträge zur experimentellen Lebernekrose, zu ihrer Entstehung und ihrer Verhütung.
Acta hepatologica 3, 1, 1955.
29. EGER, W.; W.KING, R.SCHRÖDER: Beiträge zum Verhalten der Lipasen, insbesondere der Leber, unter normalen und pathologischen Bedingungen.
Acta histochem. 6, 17, 1958.
30. EGER, W. und U.KURTH: Das Verhalten der Succinodehydrase der Leber allylkohol- und tetrachlorkohlenstoffvergifteter Ratten unter der Einwirkung von Cystein.
Acta histochem. 6, 8, 1958.
31. EISEMANN, B.; W.BAKEWELL, C.CLARK: Studies in ammonia metabolism. I. Ammonia metabolism and glutamate therapy in hepatic coma.
Am. J. Med. 20, 890, 1956.
32. EYMER, K.P.: Papierelektrophoretische Untersuchungen bei experimentellen Leberschäden an der Ratte.
Zschr. f. Klin. Med. 152, 137, 1953.
33. FAHEY, J.L.: Toxicity and blood ammonia rise resulting from intravenous amino acid administration in man.
The protective effect of l-arginine.
J. clin. Invest. 36, 1647, 1957.

4. FAHEY, J.L.; D.NATHANS, D.RAIRIGH: Effect of l-arginine on elevated blood ammonia levels in man.
Am. J. Med. 23, 860, 1957.
5. FAHEY, J.L.; R.S.PERRY, P.F.McCOY: Blood ammonia elevation and toxicity from intravenous l-amino acid administration to dogs; the protective role of l-arginine.
Am. J. Physiol. 192, 311, 1958.
6. FALON, W.W. und C.J.FISCHER: Clinical experience with the use of neomycin in hepatic coma.
Am. M.A. Arch. Int. Med. 103, 43, 1959.
7. FAZEKAS, J.F.; H.E.TICKTIN, J.G.SHEA: Effect of l-glutamic acid on metabolism of patients with hepatic encephalopathy.
Am. J. Med. sci. 234, 145, 1957.
8. FOLIN, O. und H.BERGLUND: The retention and distribution of amino acids with especial reference to the urea formation.
J. biol. Chem. 51, 395, 1922.
9. FORKER, L.L.; J.L.CHAIKOFF, C.ENTENMAN, H.TARVER: Formation of muscle protein in diabetic dogs studied with S³⁵-Methionine.
J. biol. Chem. 188, 37, 1951.
10. FRERICHS, H.: Klinik der Leberkrankheiten.
Braunschweig 1861.
11. FRUNDER, H.; H.BÖRNIG, G.RICHTER, K.STADE: Der Stoffwechsel geschädigter Gewebe. III. Mitt. Die Stoffwechselveränderungen in der Leber 4 - 48 Stunden nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung.
Hoppe-Seyler's Zt. physiol. Chem. 307, 161, 1957.
12. FRUNDER, H.; W.FISCHER, H.BÖRNIG: Der Stoffwechsel geschädigter Gewebe. II. Mitt. Die primären Stoffwechselveränderungen in der Leber nach CCl₄-Vergiftung.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 306, 112, 1956.
13. GLYNN, L.E. und H.P.HIMSWORTH: The intralobular circulation in acute liver injury by tetrachloride.
Clin. Sci. 6, 235, 1948.
14. GREENSTEIN, J.P.; M.WINITZ, P.GULLINO, S.M.BIRNBAUM, M.C.OTTEY: Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo. III. Prevention of ammonia toxicity by arginine and related compounds.
Arch. Biochem. 64, 342, 1956.

45. GROSSMANN, M.I.: Hepatic coma.
Gastroenterology 34, 667, 1958.
46. GULLINO, P.; M. WINITH, S. M. BIRNBAUM, J. CORNFELD, J. C. OTEY,
J. P. GREENSTEIN: Studies on the metabolism of amino acids and
related compounds in vivo. I. Toxicity of essential amino acids,
individually and in mixtures and the protective effect of l-arginine.
Arch. Biochem. 64, 319, 1956.
47. HANFORD, S.: An experimental study of ammonium intoxication.
Gastroenterology 36, 771, 1959.
48. HARPER, H. A.; M. E. HUTCHIN, J. R. KIMMEL: Concentrations of nineteen
amino acids in plasma and urine of fasting normal males.
Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 80, 768, 1953.
49. HARPER, H. A.; J. S. NAJARIAN, W. SILEN: Effect of intravenously administered
amino acids on blood ammonia.
Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 92, 588, 1956.
50. HEIM, F.; F. LEUSCHER, A. OTT: Der Einfluss von Tetrachlorkohlenstoff auf
die Ferment- und Co-Enzym-A-Aktivität der Leber.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. & Pharm. 229, 360, 1956.
51. HENLEY, K. S.: Parenchymatous liver disease (1956-1957). A review.
Gastroenterology 35, 265, 1958.
52. HIMSWORTH, H. P.: Lectures on the liver and its diseases.
Cambridge, Mass.: Harvard University Press 1947, p. 32.
53. HOFFMANN, J.; M. B. HIMES, S. LAPAN, R. RISZKI, J. POST: Responses of
the liver to injury: Effect of acute carbon tetrachloride poisoning.
A. M. A. Arch. Path. 59, 429, 1955.
54. HOVE, E. L. und J. O. HARDIN: Creatine synthesis by rat liver, in vitro, as
influenced by carbon tetrachloride and dietary vitamin E deficiency.
J. Pharmacol. 106, 88, 1952.
55. HSIA, D. Y.; S. S. GELLIS: Amino acid metabolism in infectious hepatitis.
J. clin. Invest. 33, 1603, 1954.
56. IBER, F. L.; T. C. CHALMERS: Biochemical observations on the use of
l-glutamic acid in the treatment of hepatic coma.
J. clin. Invest. 36, 706, 1957.
57. IBER, F. L.; H. ROSEN, S. M. LEVENSON, T. C. CHALMERS: The plasma amino
acids in patients with liver failure.
J. lab. clin. Med. 50, 417, 1957.

58. KIRSNER, J.B.; A.L.SHEFFNER, W.L.PALMER: Studies on amino acid excretion in man. III. Amino acid levels in plasma and urine of normal men fed diets of varying protein content.
J. clin. Invest. 28, 716, 1949.
59. KNAUFF, H.G. und F.BÖCK: Über die freien Gehirnaminosäuren und das Äthanolamin der normalen Ratte und das Verhalten dieser Stoffe während der experimentellen Insulinhypoglykämie.
J. Neurochemistry 1960, im Druck.
60. KNAUFF, H.G.; P.DIETERLE und H.ZICKGRAF: Quantitative Bestimmung von 21 freien Plasmaamino-säuren bei gesunden Versuchspersonen.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 316, 186, 1959.
61. KNAUFF, H.G.; W.MIALKOWSKY und H.ZICKGRAF: Über die freien Aminosäuren des Liquor cerebrospinalis und ihren Nachweis mit papierchromatographischen und elektropherographischen Methoden.
Z. klin. Med. 155, 483, 1959.
62. KNAUFF, H.G. und W.SCHRAMM: Zur Frage morphologischer Äquivalentbilder der histologischen Hypoxydase.
Frankf. Ztschr. f. Pathologie 67, 308, 1956.
63. KNAUFF, H.G. und H.SELMAIR: Die Bestimmung der freien alpha-Aminosäuren im Harn mit Hilfe eines neuen manometrischen Verfahrens.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 317, 108, 1959.
64. KNAUFF, H.G.; H.SELMAIR und A.REITLINGER: Untersuchungen über die freien Aminosäuren in Harn und Blutplasma bei Gesunden und bei Leberkranken.
Klin. Wschr. 1960, im Druck.
65. KNAUFF, H.G.; H.SELMAIR und H.ZICKGRAF: Die freien Aminosäuren in Ascites- und Pleurapunktaten.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 318, 73, 1960.
66. KNAUFF, H.G. und H.ZICKGRAF: Über das Vorkommen von freien Äthanolamin (Colamin) im Liquor cerebrospinalis des Menschen.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 312, 264, 1958.
67. KOCH-WESER, D.; E.FARBER, H.POPPER: Fatty liver with and without necrosis. Histological and biochemical investigations.
Arch. Path. 51, 498, 1951.
68. KREBS, H.A.: Metabolism of amino acids. IV. Synthesis of glutamine from glutamic acid and ammonia and the enzymatic hydrolysis of glutamine in animal tissues.
Biochem. J. 49, 1951, 1935.

69. KREBS, H. A. und K. HENSELEIT: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 210, 33, 1932.
70. KÜHN, H. A.: Die Pathogenese des Coma hepaticum.
Dtsch. Med. Wschr. 83, 658, 1958.
71. LACQUET, A. M.: Experimental pathology of the liver. VIII. Effects of CCl_4 on the normal and on the restored liver after partial hepatectomy.
Arch. Path. 14, 164, 1932.
72. LAMSON, P. D.; A. J. McLEAN: The toxicity of carbon tetrachloride in relation to liver function as tested by phenoltetrachlorophthalein.
J. Pharm. exp. Therap. 21, 237, 1923.
73. LANG, K. und W. KIECKEBUSCH: Untersuchungen zur Aminosäureimbilanz.
Klin. Wschr. 35, 905, 1957.
74. LEDUC, E. H. und J. W. WILSON: Injury to liver cells in carbon tetrachloride poisoning.
A. M. A. Arch. Path. 65, 147, 1958.
75. MANN, F. C.: The effect of complete and of partial removal of the liver.
Medicine 6, 419, 1927.
76. MANNING, R. T. und M. DELP: Managment of hepatocerebral intoxication.
New England J. Med. 258, 55, 1958.
77. McDERMOTT, W. V.: Metabolism and toxicity of ammonia.
New England J. Med. 267, 1076, 1957.
78. McDERMOTT, W. V.; R. D. ADAMS, A. G. RIDELL: Ammonia metabolism in man.
Ann. Surg. 140, 539, 1954.
79. McDERMOTT, W. V.; D. H. HENNEMANN, C. LAUMONT: The metabolic effect of glutamic acid and arginine in "hepatic coma" with hyperammonemia.
J. clin. Invest. 36, 913, 1957.
80. McDERMOTT, W. V.; J. WAREHAM, A. G. RIDELL: Treatment of hepatic coma with l-glutamic acid.
New England J. Med. 253, 1093, 1955.
81. MELLINKOFF, S. M.; T. B. REYNOLDS, M. FRANKLAND, M. GREIPEL: Amino acids in arterial and hepatic venous blood of patients with Laenec's cirrhosis.
Gastroenterology 36, 780, 1959.

82. MÜTING, D.: Der Aminosäuregehalt des menschlichen Urins.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 297, 61, 1954.
83. MÜTING, D.: Der Aminosäuren-Haushalt des Menschen.
Arzneimittelforschung 8. Beiheft 1955.
84. MÜTING, D.: Methionin. Stoffwechsel, Wirkung, Vorkommen und Bedeutung für die Therapie.
Ztsch. f. d. ges. Inn. Med. 12, 1007, 1957.
85. MURPHY, T. L.; T. C. CHALMERS, R. D. ECKHARDT, C. S. DAVIDSON: Hepatic coma. Clinical and laboratory observations on forty patients.
New England J. Med. 239, 605, 1948.
86. MYREN, J.: Injury of liver tissue in mice after single injections of carbon tetrachloride.
Acta pathol. scand. Suppl. 116, 1, 1956.
87. NAJARIAN, J. S.; H. A. HARPER: A clinical study of the effect of arginine on blood ammonia.
Am. J. Med. 21, 832, 1956.
88. NAJARIAN, J. S.; H. A. HARPER: Comparative effect of arginine and monosodium glutamate on blood ammonia.
Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 92, 560, 1956.
89. NAJARIAN, J. S.; H. A. HARPER: A comparison of arginine and l-glutamic acid in the treatment of ammonia toxicity.
S. Forum 7, 438, 1957.
90. NAJARIAN, J. S.; H. A. HARPER: Etiology and treatment of ammonia intoxication associated with disease of the liver.
Surg. Gynec. & Obst. 106, 577, 1958.
91. NAJARIAN, J. S.; H. A. HARPER, H. J. McCORKLE: Amino acid therapy of ammonia intoxication.
Surgery 44, 11, 1958.
92. ONEN, K. H.; O. L. WADE, J. D. BLAINEY: Amino acids in hepatic venous and arterial blood.
Lancet. 1075, 1956.
93. PARSONS-SMITH, B. G.; W. H. J. SOMMERSKILL, A. M. DAWSON, S. SHERLOCK: The elektroencephalograph in liver disease.
Lancet 266, 867, 1957.

94. RATNER, S.; W.P. ANSLOW, B. PETRACK: Biosynthesis of urea. VI. Enzymatic cleavage of argininosuccinic acid to arginine and fumaric acid.
J. biol. Chem. 204, 115, 1953.
95. RATNER, S.; B. PETRACK, O. ROCHOVANSKY: Prosynthesis of urea. V. Isolation and properties of argininosuccinic acid.
J. biol. Chem. 204, 95, 1953.
96. RECKNAGEL, R. O. und D. D. ANTHONY: Biochemical changes in carbon tetrachloride fatty liver: Separation of fatty changes from mitochondrial degeneration.
J. biol. Chem. 234, 1052, 1959.
97. RECKNAGEL, R. O. und S. MALAMED: The osmotic nature of mitochondrial swelling produced by carbon tetrachloride and inorganic phosphate.
J. biol. Chem. 232, 705, 1958.
98. RECKNAGEL, R. O.; J. STADLER, M. LITTERIA: Biochemical changes accompanying development of fatty liver.
Fed. Proc. 17, 129, 1958.
99. RECKNAGEL, R. O.; D. D. ANTHONY: Effects of CCl_4 on enzyme systems of rat liver mitochondria.
Fed. Proc. 16, 105, 1957.
100. RICHTER, G.; H. FRUNDER, H. BÖRNIG: Der Stoffwechsel geschädigter Gewebe. V. Das Verhalten von Nucleinsäuren und Lipoid-P in der Leber nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 310, 249, 1958.
101. ROKITANSKY, C.: Handbuch der pathologischen Anatomie, Wien 1848.
102. ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik.
Leibniz-Verlag München 1948, S. 660.
103. SAPIRSTEIN, M. R.: Effect of glutamic acid on central action of ammonium ion.
Proc. Soc. exp. Biol. & Med. 52, 334, 1943.
104. SCHREIER, K. und H. PLÜCKTHUN: Untersuchungen über den Gehalt von freien Aminosäuren im Serum und Urin.
Biochem. Z. 320, 447, 1950.
105. SCHREIER, K. und H. SATTELBERG: Untersuchungen über den Aminosäurestoffwechsel bei Erkrankungen der Leber.
Dtsch. Med. Wschr. 76, 866, 1951.

106. SHARE, L. und R. O. RECKNAGEL: Effect of carbon tetrachloride poisoning on potassium, sodium and water content of liver mitochondria.
Am. J. Physiol. 197, 121, 1959.
107. SHEFFNER, A. L.; J. B. KIRSNER, W. L. PALMER: Studies on amino acid excretion in man. I. Amino acids in urine.
J. biol. Chem. 175, 107, 1948.
108. SHERLOCK, S.: Pathogenesis and management of hepatic coma.
Am. J. Med. 24, 805, 1958.
109. SMITH, H. W.: The Kidney.
Oxford Univ. Press 1951, p. 110.
110. SOLLMANN, T.: A Manual of Pharmacology and its Applications to Therapeutics and Toxicology.
W. B. Saunders Comp. VII. Edit., Philadelphia and London 1950.
111. SPORN, M. B.; W. DINGMAN, A. DEFALCO, R. K. DAVIES: Formation of urea from arginine in the brain of the living rat.
Nat. 183, 1520, 1959.
112. STEELE, B.; M. S. REYNOLDS, C. A. BAUMANN: Amino acids in the blood and urine of human subjects, ingesting different amounts of the same proteins.
Nutrition 40, 145, 1950.
113. STEIN, W. H.: A chromatographic investigation of the amino acid constituents of normal urine.
J. biol. Chem. 201, 45, 1953.
114. STOWELL, R. E. und C. S. LEE: Histochemical studies of mouse liver after single feeding of carbon tetrachloride.
Arch. Path. 50, 519, 1950.
115. STROHMEYER, G.; G. A. MARTINI, V. KLINGMÜLLER: Veränderungen von a-Ketoglutarinsäure, Brenztraubensäure Diphosphopyridinnucleotid bei chronischen Leberkrankheiten.
Klin. Wschr. 36, 385, 1957.
116. SUMMERSKILL, W. H. J.; S. J. WOLFE, C. S. DAVIDSON: The metabolism of ammonia and alpha-keto-acids in liver disease and hepatic coma.
J. clin. Invest. 36, 361, 1957.
117. THIERS, R. E. und E. S. REYNOLDS: Effects of carbon tetrachloride intoxication on distribution of metals in subcellular fractions of rat liver.
Fed. Proc. 17, 129, 1958.

118. TRAEGER, J.S.; G.J.GABUZDA, A.N.BALLON, C.S.DAVIDSON: Blood "Ammonia" concentration in liver disease and liver coma. *Metabolism* 3, 99, 1954.
119. TRIANTAPHYLLOPOULOS, E. und J.TUBA: Changes in intestinal and serum alkaline phosphatase levels during absorption of certain amino acids. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 711, 1959.
120. TSUBOI, K.K. und R.E.STOWELL: Enzyme alterations associated with mouse liver degeneration and regeneration after single carbon tetrachloride feeding. *Cancer Research* 11, 221, 1951.
121. TSUBOI, K.K.; R.E.STOWELL, C.S.LEE: Chemical alterations induced in mouse liver following a single feeding of carbon tetrachloride. *Cancer Research* 11, 87, 1951.
122. VARAY, A.; M.MASSON: Ammoniurie und Leberkrankheiten. *Gastroenterologia* 86, 421, 1956.
123. VILLELA, G.G. und E.MITIDIERI: Rat liver xanthine oxydase in carbon tetrachloride poisoning. *Nat.* 175, 208, 1955.
124. VRIES, de A. und B.ALEXANDER: Studies on amino acid metabolism. II. Blood glycine and total amino acids in various pathological conditions, with observations on the effects of intravenously administered glycine. *J. clin. Invest.* 27, 655, 1948.
125. WAELSCH, H.: The metabolism of glutamic acid. *Lancet* 257, I, 1, 1949.
126. WAGNER, R.: Probleme und Beispiele biologischer Regelung. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1954.
127. WAHL, P.N.; H.D.TANDON, T.P.BHARADWAJ: Acute carbon tetrachloride hepatic injury: Composite histological, histochemical and biochemical study. *Acta pathol. et microbiolog. Scand.* 37, 305, 1955.
128. WALSH, J.M.: Observations on the symptomatology and pathogenesis of hepatic coma. *Quart. J. Med.* 20, 421, 1951.
129. WALSH, J.M.: Disturbances of amino acid metabolism following liver injury. *Quart. J. Med.* 88, 483, 1953.

130. WALSHE, J. M.: The effect of glutamic acid on the coma of hepatic failure.
Lancet 261, I, 1075, 1953.
131. WALSHE, J. M.: Hepatic coma.
Postgraduate Med. J. 32, 467, 1956.
132. WALSHE, J. M. und B. SENIOR: Disturbances of cystine metabolism in liver disease.
J. clin. Invest. 34, 302, 1955.
133. WEBSTER, L. T. und C. S. DAVIDSON: The effect of sodium glutamate on hepatic coma.
J. clin. Invest. 35, 191, 1956.
134. WEBSTER, L. T.; C. S. DAVIDSON, G. J. GABUZDA: Effect and portal blood ammonium of administering nitrogenous substances to patients with chronic hepatic disease.
J. lab. clin. Med. 62, 501, 1958.
135. WEBSTER, L. T.; G. J. GABUZDA: Ammonia uptake by the extremities and brain in hepatic coma.
J. clin. Invest. 37, 414, 1958.
136. WEIL-MALHERBE, H.: Studies on brain metabolism. I. The Metabolism of glutamic acid in brain.
Biochem. J. 30, 665, 1936.
137. WEIL-MALHERBE, H.: Glutamic acid and its relation to the nervous system.
Biochem. J. 50, XXIII, 1952.
138. WEWALKA, F.: Beziehungen zwischen Störungen des Aminosäurestoffwechsels und Leberkrankheiten.
Acta hepatolog. 4, 137, 1956.
139. WINITZ, M.; J. P. Du RUISSEAU, M. C. OTEY, S. M. BRINBAUM, J. P. GREENSTEIN: Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo. V. Effects of combined administration of non-protective compounds and subprotective levels of l-arginine-HCl on ammonia toxicity in rats.
Arch. Biochem. 64, 368, 1956.
140. YOUNG, W. K.; J. V. V. JOHNSON, H. E. TICKTIN, J. F. FAZEKAS: Effect of combined administration of ammonium-binding substances in hepatic encephalopathy.
Am. J. Med. Sci. 238, 96, 1959.

141. ZÖLLNER, N. und H.GROEBL: Die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase bei experimenteller Leberschädigung.
Hoppe-Seyler's Z. f. physiol. Chem. 290, 177, 1952.
142. ZÖLLNER, N. und E.RAISICH: Beobachtungen über den zeitlichen Ablauf der Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff bei der Ratte.
Z. f. d. ges. exp. Med. 128, 140, 1956.

Herrn Dr. H.G. KNAUFF sei an dieser Stelle für die Themastellung, für die Bereitstellung eines Laborplatzes und für die freundliche Beratung und Beihilfe bei der Zusammenstellung der Arbeit herzlich gedankt.

Herrn Priv. Doz. Dr. M. EDER und Herrn Dr. A. SCHAUER (Pathologisches Institut) danke ich für die Beurteilung der histologischen Schnitte.

LEBENS LAUF

Am 13. 5. 1935 wurde ich, Fritz Windsheimer, als Sohn des Arztes Dr. Georg Windsheimer und dessen Ehefrau Elisabeth Windsheimer, geb. Jungbauer, in Stallwang geboren.

Die Volksschule besuchte ich vier Jahre in Weilheim/Obb., anschliessend die Oberschule in Weilheim und die Gisela-Oberrealschule in München. Dort legte ich am 15. Juli 1955 die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1955 immatrikulierte ich mich als Student der Medizin an der Universität München, wo ich im Frühjahr 1958 die ärztliche Vorprüfung bestanden habe und im Juni 1961 das medizinische Staatsexamen.

